



# Ohje moniresistenttien bakteerien diagnostiikasta

Toteaminen, resistenssimekanismit ja  
kantajuusseulonnat

Jari Jalava

Terveiden ja hyvinvoinnin laitos  
Bakteeri-infektiot-yksikkö  
Kiinamyllynkatu 13  
20520 Turku  
Puhelin: 029 524 6629  
[www.thl.fi](http://www.thl.fi)

OHJAUS 3/2016

## Ohje moniresistenttien bakteerien diagnostiikasta

Toteaminen, resistenssimekanismit ja  
kantajuusseulonnat

*Jari Jalava*



TERVEYDEN JA  
HYVINVOINNIN LAITOS

© Kirjoittaja ja Terveiden ja hyvinvoinnin laitos

Ohjetyöryhmä:

Jari Jalava (pj.), THL,  
Antti Hakanen, Tyks Mikrobiologia ja genetiikka  
Jari Kauranen, NordLab  
Laura Lindholm, THL  
Kaisu Rantakokko-Jalava, Tyks Mikrobiologia ja genetiikka  
Anne-Mari Rissanen, ISLAB  
Eveliina Tarkka, HUSLAB  
Martti Vaara, HUSLAB  
Risto Vuento, FIMLAB  
Jaana Vuopio, Turun Yliopisto / THL  
Monica Österblad, THL

Yhteystiedot ja palaute:

Jari Jalava  
THL / Bakteeri-infektiot-yksikkö  
Kiinamyllynkatu 13  
20520 Turku  
sähköposti: jari.jalava@thl.fi  
puhelin: 029 524 6629

ISBN 9789523026148 (painettu)  
ISBN 9789523026155 (verkkajulkaisu)  
ISSN 23418095 (painettu)  
ISSN 23234172 (verkkajulkaisu)  
<http://urn.fi/URN:ISBN:9789523026155>

Juvenes Print – Suomen Yliopistopaino Oy  
Tampere, 2016

# SISÄLLYSLUETTELO

<b>1 Johdanto</b>	<b>5</b>
<b>2 Karbapenemaasia tuottavat enterobakteerit (CPE)</b>	<b>6</b>
2.1 Määritelmä ja kliininen merkitys	6
2.2 Toteaminen	6
2.2.1 Kantojen seulonta	6
2.2.2 Varmistusmenetelmä	7
2.3 Kantajuusseulonnat	8
<b>3 Laajakirjoista <math>\beta</math>-laktamaasia (ESBL) tuottavat enterobakteerit</b>	<b>10</b>
3.1 Määritelmä ja kliininen merkitys	10
3.2 Toteaminen	10
3.2.1 Seulontamenetelmä	10
3.2.2 Varmistusmenetelmä	11
3.2.3 Herkkyystulosten tulkinnat, ESBL:ää tuottavat bakteerikannat	11
3.3 Kantajuusseulonnat	13
<b>4 Plasmidivälitteistä AmpC-entsyymiä tuottavat enterobakteerit (AmpC)</b>	<b>14</b>
4.1 Määritelmä ja kliininen merkitys	14
4.2 Toteaminen	14
<b>5 Metisilliiniresistentti <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)</b>	<b>15</b>
5.1 Määritelmä ja kliininen merkitys	15
5.2 Toteaminen	15
5.3 Kantajuusseulonnat	16
<b>6 Glykopeptidiresistentti <i>Staphylococcus aureus</i> (GRSA)</b>	<b>18</b>
6.1 Määritelmä ja kliininen merkitys	18
6.2 Toteaminen	18
<b>7 Vankomysiiniresistentti enterokokki (VRE)</b>	<b>19</b>
7.1 Määritelmä ja kliininen merkitys	19
7.2 Toteaminen	19
7.3 Kantajuusseulonnat	20
<b>8 Moniresistentti <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (MDR-Pseud)</b>	<b>21</b>
8.1 Määritelmä ja kliininen merkitys	21
8.2 Toteaminen	21
8.3 Kantajuusseulonnat	21
<b>9 Moniresistentti <i>Acinetobacter baumannii</i> (MDR-Aci)</b>	<b>22</b>
9.1 Määritelmä ja kliininen merkitys	22
9.2 Toteaminen	22
9.3 Kantajuusseulonnat	22
<b>10 Lyhenteet</b>	<b>23</b>
<b>11 Yhteenvetotaulukot</b>	<b>24</b>
<b>12 Lähteet</b>	<b>25</b>

Vanhentunut

# 1 Johdanto

Mikrobilääkeresistenssin lisääntyminen on maailmanlaajuinen ongelma. Useille mikrobilääkkeille resistentit bakteerikannat leviävät paikallisesti sairaaloissa ja muissa hoitolaitoksissa, mutta samalla leviämistä voi tapahtua maiden ja maanosien välillä ihmisten, eläinten ja elintarvikkeiden mukana. Moniresistenttien mikrobien torjunnan onnistumisen kannalta on keskeistä, kuinka hyvin kyseiset mikrobit todetaan laboratorioissa. Suurin osa moniresistenteistä bakteerikannoista eristetään kantajuusseulontoja varten tehdyistä bakteeriviljelyistä. Eristetty bakteerikanta antaa aina parhaan mahdollisuuden arvioida bakteerin mikrobilääkeresistenssiä ja resistenssimekanismeja. Toisaalta geenimonistusmenetelmät ovat tulossa myös tälle sektorille tarjoten usein viljelyä ja perinteisiä fenotyyppisiä testejä nopeammin tuloksia. Tämä suositus määrittelee minimitason moniresistenttien bakteerien toteamisessa käytettävälle diagnostiikalle. Se antaa myös ohjeita kantajuusseulonnoille ja geenimonistusmenetelmien käytölle. Kokemusta geenimonistusmenetelmien käytöstä kantajuusseulontojen yhteydessä on toistaiseksi vielä suhteellisen vähän. Suositusta on siksi tarkoitus täydentää ja päivittää tiedon lisääntyessä. Tämä ohje pohjautuu pääosiltaan EUCAST:n julkaisemaan menetelmäohjeeseen resistenssimekanismien toteamisesta (1). Ohje on täydennetty vastaamaan suomalaisia käytäntöjä. Tähän on lisätty suosituksia myös kantajuusseulontojen toteuttamisesta.

## 2 Karbapenemaasia tuottavat enterobakteerit (CPE)

### 2.1 Määritelmä ja kliininen merkitys

Karbapenemaasit ovat bakteerien tuottamia entsyymejä, jotka hajottavat karbapeneemiryhmän mikrobilääkkeitä kuten imipeneemiä, meropeneemiä ja ertapeneemiä. Karbapenemaasigeenin omaavilla bakteerikannoilla on yleensä myös muita resistenssigeenejä, joten ne ovat aina moniresistenttejä (MDR), hyvin usein resistenttejä lähes kaikille antibiooteille (XDR) ja joskus jopa panresistenttejä (PDR) eli vastustuskykyisiä kaikkia käytettävissä olevia mikrobilääkkeitä vastaan. Karbapenemaasia tuottavasta *Enterobacteriaceae*-heimon bakteerista käytetään lyhennettä CPE. Kliinisesti tärkeimpiä CPE-lajeja ovat *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ja *Enterobacter cloacae*. Karbapenemaaseja on useita erilaisia. Yleisimmät kliinisistä näytteistä eristetyistä bakteereista löydetty karbapenemaasit ovat tyyppinimeltään KPC, OXA-48, VIM ja NDM.

Karbapeneemiresistenttien enterobakteereiden aiheuttamat infektiot muodostavat vakavan hoito-ongelman, mikä johtuu karbapeneemiresistenssin lisäksi moniresistenssistä. Tehokkaan mikrobilääkehoidon aloitus saattaa viivästyä ja toisaalta käytettävissä olevien mikrobilääkkeiden, kuten kolistiinin, mikrobiologinen teho voi olla huonompi, mikä heikentää hoitojen onnistumista ja lisää kuolleisuutta (3).

*Enterobacteriaceae*-heimon laji voi tulla karbapeneemeille resistentiksi myös ilman varsinaista karbapenemaasia. Tällöin on useimmiten kyse ESBL:ia tai AmpC-tyyppistä beetalaktaamaasia tuottavasta bakteerikannasta, jossa on lisäksi tapahtunut permeabiliteettimuutoksiin johtavia solun ulkokalvomutoksia (4). Toisin kuin karbapenemaaseja omaavat kannat, nämä kannat eivät toistaiseksi ole aiheuttaneet laajoja epidemioita.

### 2.2 Toteaminen

#### 2.2.1 Kantojen seulonta

Karbapenemaaseja tuottavien kantojen toteaminen on kaksivaiheinen prosessi ja perustuu näiden kantojen alentuneeseen karbapeneemiherkkyyteen. Ensin tunnistetaan alentunut karbapeneemiherkkyys EUCAST:n kiekkoherkkyysmenetelmällä tai määrittämällä kannan karbapeneemi-MIC. Tämän jälkeen karbapenemaasigeeni osoitetaan molekyylibiologisilla menetelmillä.

Meropeneemi on tutkimusten mukaan paras mikrobilääke löytämään karbapenemaasia tuottavat kannat. Imipeneemi ei ole riittävän herkkä löytämään kaikkia karbapenemaasia tuottavia kantoja ja vaikka ertapeneemin herkkyys on hyvä, on sen spesifisyys huono. Erityisen tärkeää on huomata, että tiettyjen *Enterobacteriaceae*-heimon lajien, kuten *E. cloacae* ja ESBL:ää tuottavien *K. pneumoniae* -kantojen herkkyys ertapeneemille voi helposti muuttua ertapeneemihoidon aikana. Tällöin valikoituu ertapeneemille resistenttejä kantoja, joilla ei yleensä ole karbapenemaasia (4).

Taulukossa 1 on esitetty EUCAST:n seulontarajat (1) CPE-kantojen toteamiseen. Nämä rajat eroavat osittain EUCAST:n herkkyysrajoista. Ne on valittu siten, että myös heikosti karbapeneemaasia ilmentävät bakteerikannat voidaan löytää. EUCAST:n ohjeesta poiketen suositellaan, että näitä seulontarajoja sovelletaan ainoastaan *Klebsiella*-, *E. coli*- ja *E. cloacae* -kannoille. Muiden *Enterobacteriaceae*-heimon lajien kohdalla seulontarajana käytetään EUCAST:n mukaista herkkyystulkintarajaa. Tämän poikkeuksen tarkoituksena on lisätä seulontarajojen spesifisyyttä.

Taulukko 1. Kliiniset herkkyystulkinta- ja seulontarajat karbapenemaaseja tuottaville *Enterobacteriaceae* -heimon lajeille (herkkyysmäärittysten suoritus EUCAST-standardin mukaan).

Mikrobilääke	MIC (mg/L)		Kiekkoherkkyysmenetelmä (mm, 10µg kiekko)	
	Herkkyystulkintaraja (S)	Seulontaraja*	Herkkyystulkintaraja (S)	Seulontaraja*
Meropeneemi**	≤ 2	> 0.12	≥ 22	< 25***
Imipeneemi****	≤ 2	> 1	≥ 22	< 23
Ertapeneemi*****	≤ 0.5	> 0.12	≥ 25	< 25

\*Seulontarajoja käytetään *Klebsiella* -, *E. cloacae* - ja *E. coli* -kantojen kohdalla. Muiden *Enterobacteriaceae* -heimon lajien kohdalla käytetään herkkyystulkintarajoja.

\*\*Meropeneemi on ensisijainen seulonnassa suositeltava mikrobilääke.

\*\*\*Osa OXA-48 -kannoista voi tällä seulontarajalla jäädä löytymättä.

\*\*\*\*Imipeneemiä ei suositella käytettäväksi seulonnoissa *Morganella*-, *Proteus*-, *Providencia*- ja *Serratia*-sukujen kohdalla, koska lajeilla on luonnostaan alentunut herkkyys imipeneemille.

\*\*\*\*\*Ertapeneemin spesifisyys on huono.

### 2.2.2 Varmistusmenetelmä

Karbapenemaasigeenin omaavat kannat varmistetaan parhaiten geenimonistumenetelmillä. Kaupallisia monistustekniikoihin perustuvia menetelmiä on jo markkinoilla. Lisäksi varmistuksessa voidaan käyttää validoituja *in house* -menetelmiä. Tällä hetkellä sairaalahygienisesti ja myös hoidollisesti merkittävimmän uhan muodostavat KPC-geenin omaavat *K. pneumoniae* -kannat. Näiden lisäksi on varauduttava OXA-48- tai NDM-geenin omaavien *K. pneumoniae* -kantojen aiheuttamiin epidemioihin. Muita kliinisesti tärkeitä karbapenemaaseja ovat VIM ja IMP. Molekyylibiologisen varmistustestin tulisi vähintään todeta seuraavat karbapenemaasigeenit: KPC, OXA-48, VIM, NDM. Taulukossa 2 on esitettyä kontrollikannat ja niiden karbapenemaasigeenit.

EUCAST suosittelee erilaisia inhibiittori-yhdistelmäkiekkotestejä CPE:n varmistamiseen. Ne ovat suhteellisen monimutkaisia (1). Niitä voidaan käyttää CPE:n varmistuksessa, mutta ne eivät korvaa geenivarmistuksia.

Karbapenemaasiaktiivisuus voidaan osoittaa fenotyyppisellä karbapeneemin hydrolyysiin (hajomiseen) perustuvalla menetelmällä. Tällaisia hydrolyysiin ja värireaktioon perustuvia kaupallisia menetelmiä on useampia saatavilla. Ne ovat nopeita, yksinkertaisia ja suhteellisen helppoja suorittaa. Myös niitä voidaan käyttää CPE:n varmistuksessa, mutta ne eivät korvaa geenivarmistuksia.

Taulukko 2. CPE-diagnostiikkaan soveltuvia kontrollikantoja

Bakteerikanta	Resistenssimekanismi
<i>Enterobacter cloacae</i> CCUG 59627	AmpC ja poriinimuutos
<i>K. pneumoniae</i> CCUG 58547 tai	Metallo-β-laktamaasi (VIM)
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 13440	
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 13443	Metallo-β-laktamaasi (NDM-1)
<i>E. coli</i> NCTC 13476	Metallo-β-laktamaasi (IMP)
<i>K. pneumoniae</i> CCUG 56233 tai	<i>Klebsiella pneumoniae</i> karbapenemaasi (KPC)
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 13438	
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 13442	OXA-48-karbapenemaasi
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 25955	Negatiivinen kontrolli



## 2.3 Kantajuusseulonnat

### Taustaa

Tällä hetkellä CPE-kannat ovat Suomessa hyvin harvinaisia, mutta niitä eristetään kuitenkin säännöllisesti. Suurin osa löydetään kantajuusseulontanäytteistä, jotka ovat siis avainasemassa karbapenemaaseja tuottavien bakteerien aiheuttamien epidemioiden torjunnassa (2). CPE-kantajuuden osoittamisessa voidaan käyttää sekä viljelyyn että geenimonistukseen perustuvia menetelmiä. Menetelmän valintaan vaikuttavat useat tekijät, kuten menetelmän suorituskyky (spesifisyys, herkkyys), nopeus, hinta ja soveltuvuus diagnostiseen ympäristöön (esimerkiksi ns. random access- tai batch mode -laitteet, kapasiteetti, ym.). Tässä ohjeessa tarkastellaan seulonnassa käytettäviä menetelmiä vain suorituskyvyn ja nopeuden osalta.

CPE-kantajuuden toteaminen voidaan tehdä selektiivisen viljelyn avulla. Viljely voidaan tehdä joko suoraan CPE:n toteamista varten kehitetylle selektiiviselle (usein kromogeeniselle) maljalle tai maljalle jossa on karbapeneemikiekko (esimerkiksi MacConkey- tai Cled-malja ja imipeneeni-, meropeneemi- tai ertapeneemikiekko). Myös imipeneemiä sisältäviä maljoja on käytetty (5, 6, 7, 8). CPE:n toteamiseen kehitetyt selektiiviset (kromogeeniset) maljat ovat useissa tutkimuksissa osoittautuneet herkemmiksi kuin karbapeneemiekkon käyttöön perustuvat seulontamaljat (5, 6, 7, 8, 9). Kaupallisia kromogeenisia maljoja on useita (10, 11). Heikkoja karbapenemaaseja kuten OXA-48 ilmentävien bakteerikantojen toteaminen viljelyyn perustuvilla menetelmillä voi olla vaikeaa (10, 11). Eri kromogeenisten maljojen herkkyydessä todeta näitä matalasti karbapeneemeille resistenttejä CPE-kantoja on isoja eroja (11). Selektiivisten (kromogeenisten) maljojen kohdalla inkubaatioajan pidentäminen (24 h → 48 h) ei välttämättä lisää herkkyyttä (10). Pidemmän inkubaatioajan käytöstä on vain vähän tutkimustietoa. Rikastusviljely nestemäisessä kasvatusliemessä ennen viljelyä maljalle saattaa parantaa seulontaviljelyn herkkyyttä (8, 12, 11), mutta samalla se voi heikentää spesifisyyttä (11). Tosin kaikissa tutkimuksissa ei rikastusviljely ole parantanut herkkyyttä (9) ja esimerkiksi KPC-karbapenemaasia tuottavien kantojen kohdalla se saattaa olla selvästi suora maljaviljelyä epäherkempi menetelmä (13). Lisäksi rikastusvaihe hidastaa tuloksen saamista. Rikastuksessa voidaan käyttää hyvinkin erilaisia kasvatusliemiä (9, 10, 12, 14).

CPE-kantajuuden toteaminen käyttäen geenimonistustekniikoita on myös mahdollista. Kaupalliset testit tunnistavat hyvin tärkeimmät karbapenemaasigeenit eristetyistä CPE-kannoista (15, 16, 17). Suurimmassa osassa julkaistuista tutkimuksista geenimonistusmenetelmät ovat herkempiä CPE:n osoittamisessa suoraan potilasnäytteestä kuin viljelyyn perustuvat menetelmät (14, 18, 19, 20, 21). Niiden käyttö myös nopeuttaa selvästi CPE-kantajien toteamista (18, 22, 23). Suurin hidaste geenimonistusmenetelmien käytölle on vielä vertailututkimusten suhteellisen pienen määrä. Lisäksi tutkimukset on tehty korkean esiintyvyyden maissa kuten Israel, Kreikka ja Yhdysvallat, joissa CPE-kannat ovat endeemisiä (16, 18, 21) tai paikallisten epidemioiden yhteydessä (22). Menetelmien käytettävyydestä matalan esiintyvyyden maissa, kuten Suomessa, ei ole tutkittua tietoa. Osassa tutkimuksista on keskitytty vain jonkun tietyn karbapenemaasin (esimerkiksi KPC) toteamiseen (14, 20, 21)..

### Suositus

Tässä suosituksessa lähdetään siitä, että CPE-kantajuuden toteamisessa olisi ensisijaisesti käytettävä viljelyyn perustuvia menetelmiä. Yksinkertaisin, nopein ja herkkyydeltään hyvä menetelmä on suora kantajuusnäytteen viljely karbapeneemiresistenttejä kantoja valikoivalle kromogeeniselle maljalle. Kaupallisia tähän tarkoitukseen sopivia maljoja/elatusaineita on useita. Maljalta poimitaan riittävä määrä erilaisia pesäkkeitä, joiden herkkyys meropeneemille määritetään. Mikäli kannan herkkyys meropeneemille on alentunut (taulukko 1), varmistetaan karbapenemaasigeeni monistusmenetelmällä. Kantajuuden toteamiseksi on syytä ottaa useampia näytteitä. Tällä hetkellä ei ole riittävästi tutkimukseen perustuvaa tietoa siitä kuinka monta näytettä tarvitaan, jotta voidaan varmistaa, ettei

potilas ole kantaja. Israelissa käytäntönä on ottaa vähintään kolme peräkkäistä kantajuusnäytettä: kaksi viljelyä ja yksi PCR-testi rikastusliemestä (14). Näytteet otetaan muutaman päivän välein. Mikäli ne kaikki ovat negatiivisia, potilaan ei katsota olevan kantaja. Tarkemmat ohjeet siitä kuinka monta ja millaista negatiivista näytettä tarvitaan ja millä aikavälillä ne on otettu, jotta altistuneen tai kolonisoituneen potilaan katsotaan olevan negatiivinen CPE-kantajuuden suhteen, löytyvät kansallisesta torjuntaohjeesta (2).

Geenimonistusmenetelmien käyttö CPE:n osoittamisessa suoraan potilasnäytteestä on mahdollista, mutta niiden toimivuudesta matalan esiintyvyyden maissa kuten Suomessa ei ole tarpeeksi tietoa. Niitä voidaan suositella käytettävän vain nopeutta vaativissa tilanteissa seulontaviljelyn lisänä. Geenimonistusmenetelmän avulla saadaan alustava tieto siitä onko potilas CPE-kantaja. Geenimonistuksen lisäksi suositellaan aina tehtäväksi seulontaviljely. Pelkän geenimonistusmenetelmän perusteella ei potilaan voi katsoa olevan CPE-kantaja. Lopullinen päätös siitä, onko potilas kantaja, tehdään viljelytulosten perusteella. Lisäksi geenimonistusmenetelmiä käytettäessä on huomattava, että geenimonistusmenetelmät voivat antaa positiivisen tuloksen, jos potilas on kantaja moniresistentin nonfermentatiivisen (esimerkiksi *Pseudomonas* tai *Acinetobacter*) karbapenemaasigeeniä tuottavan kannan suhteen. Tällöin seulontaviljelyn yhteydessä olisi osattava etsiä myös näitä lajeja.

Kaupallisia monistustekniikoihin perustuvia CPE-kantajuuden toteamiseen sopivia menetelmiä on jo markkinoilla (15, 16, 17). Lisäksi on kuvattu lukuisia joukko *in house* -menetelmiä, joilla voidaan osoittaa karbapenemaasigeeniä suoraan kliinisistä näytteistä (18, 19, 22). Koska omien *in house* -menetelmien validoiminen Suomessa on CPE-kantojen harvinaisuuden takia mahdotonta, suositellaan, että CPE:n suorassa osoituksessa käytetään vain kaupallisia hyvin validoituja menetelmiä. Koska karbapenemaasigeeniä on useita erilaisia, ei yksikään nyt käytössä olevista geenimonistusmenetelmistä totea niitä kaikkia. Suositeltavaa on, että käytettävä geenimonistusmenetelmä toteaa vähintään KPC-, OXA-48-, NDM- ja VIM-karbapenemaasit.

Nykyisten monistusmenetelmien heikkoutena on, että niillä voidaan löytää vain niitä CPE-kantoja, joilla on joku tunnettu karbapenemaasigeeni. Seulontaviljelyä tarvitaan siis myös muita mahdollisia karbapenemaaseja tuottavien kantojen toteamiseen. Lisäksi niiden avulla saadaan eristettyä bakteerikannat mikrobilääkeherkkyyden määrittämistä sekä molekyyliepidemiologista seurantaa varten.

## Yhteenveto

CPE-kantajuuden toteamisessa suositellaan käytettävän viljelyyn perustuvia menetelmiä. Kaupallisia hyvin validoituja geenimonistusmenetelmiä voidaan käyttää CPE:n osoittamiseen suoraan potilasnäytteestä nopeutta edellyttävissä tilanteissa (taulukko 14). Lopullinen päätös siitä onko potilas kantaja, tehdään vain viljelytulosten perusteella.

## 3 Laajakirjoista $\beta$ -laktamaasia (ESBL) tuottavat enterobakteerit

### 3.1 Määritelmä ja kliininen merkitys

Laajakirjoiset  $\beta$ -laktamaasit (ESBL, extended-spectrum  $\beta$ -lactamases) ovat beetalaktamaaseja, jotka pystyvät hajottamaan kolmannen polven kefalosporiineja (esimerkiksi kefotaksiimi) ja monobaktaameja (atstreonaami). Ne pystyvät yleensä hajottamaan myös penisilliinejä sekä ensimmäisen ja toisen polven kefalosporiineja. Laajakirjoisia  $\beta$ -laktamaaseja koodaavia geenejä esiintyy erityisesti *Enterobacteriaceae*-heimon sauvabakteereissa, joista tärkeimpiä ovat *K. pneumoniae* ja *E. coli*. ESBL-geenejä on sekä bakteerien kromosomeissa että plasmideissa. Horisontaalisia, laji- ja sukurajat ylittäviä ESBL-geenien siirtymisiä tapahtuu usein. Tärkeimmät geeniperheet tällä hetkellä ovat nimeltään CTX-M, TEM ja SHV.

ESBL:ää tuottavat *K. pneumoniae* -kannat ovat aiheuttaneet sairaala- ja hoitolaitosepidemioita eri puolilla maailmaa. Niiden aiheuttamiin infektioihin liittyy lisääntynyt kuolleisuus (24). Näistä seikoista johtuen niitä on pidettävä sairaalahygienisesti merkittävinä. ESBL:ää tuottavia bakteerikantoja, erityisesti *E. coli*-kantoja, löydetään myös puhtaasti avohoitosyntisten infektioiden yhteydessä. Terve väestö voi tulla ESBL-kantajaksi esimerkiksi tavallisen turistimatkan yhteydessä tai mahdollisesti tuontielintarvikkeiden välityksellä. ESBL:ää tuottavien *E. coli* -kantojen klonaalista leviämistä sairaalaympäristössä on vähemmän näyttöä kuin *K. pneumoniae* -kantojen leviämistä (25, 26). Torjuntatoimet on suunnattava erityisesti niihin hoitolaitoksiin ja niille osastoille, missä ESBL:ää tuottavien bakteerikantojen (erityisesti *K. pneumoniae*) aiheuttamat infektiot ovat merkittävä kliininen ongelma (2).

### 3.2 Toteaminen

#### 3.2.1 Seulontamenetelmä

ESBL:ää tuottavien kantojen toteaminen on kaksivaiheinen prosessi. *Enterobacteriaceae* -heimon bakteerikannan voi epäillä tuottavan ESBL:ää, mikäli sen herkkyys 3. polven kefalosporiineille on alentunut (taulukko 3). ESBL:n tuotto varmistetaan fenotyyppisillä menetelmillä (taulukot 4 ja 5). Varmistustestit perustuvat klavulaanihapon kykyyn estää ESBL-entsyymien toiminta. Molekulaarista varmistusta ei vaadita.

Taulukko 3. Herkkyystulkinta- ja seulontarajat ESBL:ää tuottaville *Enterobacteriaceae*-heimon lajeille (herkkyysmäärittysten suoritus EUCAST-standardin mukaan).

Mikrobilääke	MIC (mg/L)	
	Herkkyystulkintaraja (S)	Seulontaraja
Kefpodoksiimi	$\leq 1$	$> 1$
Keftatsidiimi	$\leq 1$	$> 1$
Kefotaksiimi	$\leq 1$	$> 1$
Keftriaksoni	$\leq 1$	$> 1$
Kiekko (määrä)	Kiekkoherkkyysmenetelmä (mm)	
	Herkkyystulkintaraja (S)	Seulontaraja
Kefpodoksiimi (10 $\mu$ g)	$\geq 21$	$< 21$
Keftatsidiimi (10 $\mu$ g)	$\geq 22$	$< 22$
Kefotaksiimi (5 $\mu$ g)	$\geq 20$	$< 20^*$
Keftriaksoni (30 $\mu$ g)	$\geq 23$	$< 23$

\*Poikkeaa EUCAST:n suosituksesta (1)

### 3.2.2 Varmistusmenetelmä

ESBL:n tuotto varmistetaan fenotyyppisellä menetelmällä (taulukko 4). Käytössä olevista menetelmistä on pitkä kokemus. Ne kaikki perustuvat klavulaanihapon kykyyn estää ESBL:n toiminta. Testien tulkinnot on esitetty taulukossa 4. Fenotyyppiset varmistustestit ovat suhteellisen luotettavia, joten molekulaarista varmistusta ei tarvita kuin poikkeustilanteissa. Lisäksi ESBL:a tuottavien bakteerikantojen yleistyminen asettaa rajoituksia molekyylibiologisten menetelmien käytölle. Vuonna 2014 Suomessa eristettiin yli 3500 ESBL:a tuottavaa *E. coli*- ja *K. pneumoniae*-kanta (www.finres.fi). Kaikkien testaaminen molekulaarisilla menetelmillä vaatisi liikaa resursseja. Molekulaarisia varmistusmenetelmiä on tarpeen käyttää ainoastaan, jos on epäily fenotyyppisen varmistustestin toimimattomuudesta tai kyseessä on epidemiaselvitys. Molekulaarisen varmistustestin tulee todeta ainakin CTX-M-, TEM- ja SHV-ryhmän ESBL-geenit.

Fenotyyppiset ESBL-testit toimivat hyvin niillä lajeilla, joilla kromosomaalinen  $\beta$ -laktamaasi ei häiritse testien tulkintaa. Testit soveltuvat *E. coli* -, *K. pneumoniae* -, *K. oxytoca* - ja *Proteus mirabilis* -kannoille, joilla ei siis ole kromosomaalista indusoituvaa *ampC*-geeniä. Testejä voi käyttää myös *Salmonella* -kannoille (*Salmonella enterica* serotyyppi), joilla ei ole kromosomaalista *ampC*-geeniä. Testien toimivuudesta *Salmonella* -kannoilla on kuitenkin vähemmän kokemusta.

*Klebsiella*-lajien kromosomaaliset  $\beta$ -laktamaasit yhdessä poriiniinimuutosten kanssa voivat toisinaan antaa väärän positiivisen tuloksen. Tämä on osoitettu hyvin erityisesti *K. oxytoca* kohdalla: noin 10 - 20 % *K. oxytoca*-kannoista tuottaa kromosomaalista K1- $\beta$ -laktamaasia niin paljon, että ne antavat positiivisen tuloksen kefotaksiimi/klavulaanihappo-testillä. Ne ovat kuitenkin lähes aina herkkiä keftatsidiimille. Nämä kannat eivät siis ole ESBL:ää tuottavia, eikä niitä pidetä sairaalahygieenisesti merkittävinä (27).

Niillä *Enterobacteriaceae*-heimon lajeilla, joilla on kromosomaalinen indusoituvaa *ampC*-geeni, on muistettava, että klavulaanihappo saattaa indusoida *ampC*-geenin tuottamaan kyseistä beeta-laktamaasia, mistä voi seurata väärä negatiivinen tulos. Taulukoissa 4 esitetty testit eivät siis ole luotettavia *Enterobacter*-, *Providencia*- ja *Serratia*-suvuilla eikä myöskään seuraavilla lajeilla: *Citrobacter freundii*, *Proteus vulgaris* ja *Morganella morganii*. EUCAST:n menetelmäsuositus kehottaa käyttämään taulukossa 5 esitettyjä varmistustestejä näiden kantojen kohdalla. Taulukon 5 testien toimivuudesta on kuitenkin vähemmän kokemusta kuin perinteisten ESBL-varmistustestien (taulukko 4) toimivuudesta. Tarvittaessa ESBL-varmistus näiden lajien kohdalla voidaan tehdä myös molekulaarisilla menetelmillä (CTX-M-, TEM- ja SHV-ryhmän ESBL-geenit). Tärkeää on muistaa, että edellä mainituilla lajeilla kefalosporiiniresistenssi johtuu yleensä kromosomaalisessa geenissä tapahtuneesta mutaatiosta ja sen seurauksena AmpC:n ylituotosta. ESBL-geenit ovat näillä lajeilla harvinaisempia. Lisäksi on muistettava, että kromosomaalisen *ampC*-geenin muutoksista johtuva resistenssi saattaa johtaa kefalosporiinihoitojen epäonnistumisiin (28).

### 3.2.3 Herkkyystulosten tulkinnot, ESBL:ää tuottavat bakteerikannat

Positiivinen ESBL-varmistustesti muuttaa herkkyystuloksen tulkinnan siten, että herkän (S) kannan tulkitaan olevan herkkyydeltään alentunut (I). Tämä tulkinta, joka poikkeaa EUCAST:n ohjeesta (1), koskee penisilliinejä, kefalosporiineja, monobaktaameja ja penisilliini- $\beta$ -laktamaasi-inhibiittoriyhdistelmiä. Tulkinnassa on huomioitava se mitä EUCAST:n standardissa sanotaan eri bakteerilajien luonnollisesta resistenssistä em. mikrobilääkkeitä kohtaan ja se, että salmonellat ovat *in vitro* -testauksen tuloksesta huolimatta aina resistenttejä 1. ja 2. polven kefalosporiineille. Tulkintamuutoksen lisäksi vastaukseen suositellaan lisättävän varoitusteksti, josta ilmenee mikrobilääkkeen heikentynyt teho. Selvyyden vuoksi mainittakoon, että mikäli kanta on jo herkkyystuloksen mukaan I tai R, tulkintaa ei muuteta.

Taulukko 4. ESBL-varmistustestit

Menetelmä	Mikrobilääke	MIC-arvojen suhde tai estovyöhykkeen muoto	Tulkinta
ESBL gradienttitestit	keftatsidiimi ja keftatsidiimi/ klavulaanihappo	$\geq 8$ tai muokkautuneen ellip- sin muoto ("haamuesto")	ESBL:n tuottaja
	kefotaksiimi ja kefotaksiimi/ klavulaanihappo		
Mikrodiluutio	keftatsidiimi ja keftatsidiimi/ klavulaanihappo	$\geq 8$	ESBL:n tuottaja
	kefotaksiimi ja kefotaksiimi/ klavulaanihappo		
	kefepiimi ja kefepiimi/klavu- laanihappo		
Menetelmä	Mikrobilääke	Estovyöhykkeiden erotus (mm)	Tulkinta
Yhdistelmäkiekkotesti	keftatsidiimi 30 µg ja kef- tatsidiimi/klavulaanihappo 30/10 µg	$\geq 5$	ESBL:n tuottaja
	kefotaksiimi 30 µg kefotaksii- mi/klavulaanihappo 30/10 µg		
	kefpodoksiimii 10 µg ja kef- podoksiimi/klavulaanihappo 10/1 µg		
Menetelmä	Mikrobilääke	Estovyöhykkeiden muoto	Tulkinta
Kaksoiskiekkotesti	keftatsidiimi ja amoksisilli- niklavulaanihappo	Kefalosporiinin estovyöhyk- keen venyminen amoksisilli- niklavulaanihapon estovyöhy- kettä kohden	ESBL:n tuottaja
	kefotaksiimi ja amoksisilli- niklavulaanihappo		
	kefepiimi ja amoksisilliinikla- vulaanihappo		

Taulukko 5. ESBL-varmistustestit kromosomaalisen *ampC*-geenin omaaville kannoille.

Menetelmä	Mikrobilääke	MIC-arvojen suhde tai esto- vyöhykkeen muoto	Tulkinta
ESBL gradienttitestit	kefepiimi ja kefepiimi/klavu- laanihappo	$\geq 8$ tai muokkautuneen ellipsin muoto ("haamuesto")	ESBL:n tuottaja
Mikrodiluutio	kefepiimi ja kefepiimi/klavu- laanihappo (vakiopitoisuus 4 mg/L)	$\geq 8$	
Menetelmä	Mikrobilääke	Estovyöhykkeiden erotus (mm)	Tulkinta
Yhdistelmäkiekkotesti	kefepiimi 30 µg ja kefepiimi/ klavulaanihappo 30/10 µg	$\geq 5$	ESBL:n tuottaja
Menetelmä	Mikrobilääke	Estovyöhykkeiden muoto	Tulkinta
Kaksoiskiekkotesti	keftatsidiimi ja amoksisilli- niklavulaanihappo	Kefalosporiinin estovyöhyk- keen työntymisen amoksisilli- niklavulaanihapon estovyöhy- kettä kohden	ESBL:n tuottaja
	kefotaksiimi ja amoksisilliinik- lavulaanihappo		
	kefepiimi ja amoksisilliinikla- vulaanihappo		

Taulukko 6. ESBL-diagnostiikkaan soveltuvia kontrollikantoja

Bakteerikanta	Resistenssimekanismi
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	SHV-18 ESBL
<i>E. coli</i> CCUG 62975	CTX-M-1-ryhmän ESBL ja hankittu <i>ampC</i> -geeni (CMY)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	ESBL-negatiivinen

### 3.3 Kantajuusseulonnat

ESBL-kantajuuden toteaminen on yksi osa infektioiden torjuntaa (2). ESBL-kantajuus voidaan todeta selektiivisen kantajuusviljelyn avulla. Tähän tarkoitukseen on saatavilla useita kaupallisia kromogeenisia maljoja. ESBL:n tuotto varmistetaan fenotyyppisellä menetelmällä (kappale 3.2.2). Tarkemmat ohjeet siitä kuinka monta ja millaista negatiivista näytettä tarvitaan ja millä aikavälillä ne on otettu, jotta altistuneen tai kolonisoituneen potilaan katsotaan olevan negatiivinen ESBL-kantajuuden suhteen, löytyvät kansallisesta torjuntaohjeesta (2).

Geenimonistusmenetelmien käyttöä kantajuuden osoittamisessa ei suositella, koska näiden menetelmien toimivuudesta ei ole vielä riittävästi näyttöä. Toimivien geenimonistusmenetelmien kehittämistä haittaa erilaisten ESBL-geenien suuri määrä ja niiden horisontaalinen siirtyminen eri lajien välillä. Pelkän ESBL-geenin osoittaminen ei välttämättä tarkoita että potilas olisi potentiaalisesti patogeenisen ESBL:ää tuottavan bakteerilajin kantaja.



## 4 Plasmidivälitteistä AmpC-entsyymiä tuottavat enterobakteerit (AmpC)

### 4.1 Määritelmä ja kliininen merkitys

AmpC-luokan  $\beta$ -laktamaaseja ei lueta kuuluviksi ESBL-entsyymeihin. Ne hajottavat kuitenkin yhtä laajasti  $\beta$ -laktameja kuin ESBL:t ja niiden luokittelemista ESBL:n erikoisryhmäksi on myös esitetty (29, 30). Osa niistä leviää plasmidien välityksellä ja tällaisia plasmideja omaavia enterobakteereja on eristetty sekä sairaalainfektioiden että avohoitosyntyisten infektioiden yhteydessä. Niiden sairaalahygieninen merkitys on epäselvä. Plasmidivälitteisiä *ampC*-geenejä omaavien *K. pneumoniae* -kantojen tiedetään kuitenkin aiheuttaneen sairaalaepidemioita (31). Tässä ohjeessa varaudutaan paikallisten epidemioiden havaitsemiseen. Plasmidivälitteisiä *ampC*-geenejä tuottavia *Salmonella* -kantoja löydetään yleisesti ulkomailla saatujen infektioiden yhteydessä. Näitä kantoja esiintyy eläimissä ja elintarvikkeissa Suomen ulkopuolella (32).

### 4.2 Toteaminen

*Enterobacteriaceae* -heimon bakteerikannan voi olettaa tuottavan AmpC- $\beta$ -laktamaasia mikäli kannan herkkyys 3. polven kefalosporiineille on alentunut (taulukko 2.) eikä kanta tuota ESBL:ää (negatiivinen ESBL-varmistustesti, taulukko 4 ja taulukko 5).

Plasmidivälitteisen AmpC:n toteaminen fenotyyppisillä menetelmillä on mielekästä niillä lajeilla, joilla ei ole indusoituvaa kromosomaalista *ampC*-geeniä. Tällaisia ovat *Klebsiella* -lajit, *Proteus mirabilis* ja *S. enterica*. *E. coli* kromosomissa on *ampC*-geeni, jonka säätelyalue on muuttunut siten, että *ampC*-geenin ilmentyminen on hyvin vähäistä. Esimerkiksi klavulaanihappo ei indusoi sen ilmentymistä. Ilmentyminen voi kyllä lisääntyä mutaation johdosta, mikä johtaa *ampC*-geenin kontrollin purkautumiseen (derepressioon) ja edelleen AmpC:n ylituottoon. Tämän fenotyypin erottaminen plasmidivälitteisestä AmpC:stä on mahdotonta.

Plasmidivälitteisen AmpC:n toteaminen tapahtuu parhaiten kaupallisten tätä tarkoitusta varten kehitettyjen testien avulla. Nämä testit perustuvat yleensä kloksasilliinin kykyyn estää AmpC:n toiminta. Testien antamat tulokset on tulkittava testin valmistajan ohjeiden mukaisesti. Näiden lisäksi voidaan käyttää geenimonistustekniikoita, jotka toteavat vähintään plasmidivälitteiset AmpC-beetalaktamaasit CMY, MOX, DHA, ACC, FOX, EBC/MIR. THL:lla on menetelmät plasmidivälitteisten *ampC*-geenien toteamiseen ja tällaisia bakteerikantoja voidaan epidemiaepäilyjen yhteydessä lähettää THL:een tutkittavaksi.

**HUOMIOITAVAA!** Plasmidivälitteisen AmpC:n fenotyyppistä testaamista suositellaan ainoastaan *K. pneumoniaelle*, *P. mirabilikselle* ja *S. entericalle*. Vaikka näiden lajien kohdalla fenotyyppiset varmistustestit toimivat, on epidemiaepäilyjen yhteydessä syytä käyttää lisäksi geenitestejä kunnollisen molekyyliepidemiologisen tiedon tuottamiseksi. Lisäksi on huomattava, että *E. coli* -kantoja testataan ainoastaan epidemiaepäilyjen yhteydessä ja silloin vain geenimonistustekniikoiden avulla.

Taulukko 7. Plasmidivälitteisen *ampC*-geenin toteamiseen soveltuvia kontrollikantoja

Bakteerikanta	Resistenssimekanismi
<i>E. coli</i> CCUG 58543	Hankittu <i>ampC</i> -geeni (CMY-2)
<i>E. coli</i> CCUG 62975	CTX-M-1-ryhmän ESBL ja hankittu <i>ampC</i> -geeni (CMY)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	AmpC-negatiivinen

## 5 Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA)

### 5.1 Määritelmä ja kliininen merkitys

Metisilliiniresistentti *Staphylococcus aureus* (MRSA) on bakteeri, joka on hankkinut ylimääräisen muuntuneen penisilliiniä sitovan proteiinin (penicillin-binding protein, PBP2a), johon beetalaktaamit sitoutuvat hyvin heikosti. Kannalla oleva *mecA*- tai *mecC*-geeni koodaa tätä ylimääräistä PBP:tä. MRSA on resistentti kaikille penisilliinille, karbapeneemeille ja kefalosporiineille lukuun ottamatta tiettyjä uusimpia kefalosporiineja. MRSA-kannat voivat hankkia resistenssitekijöitä myös muita mikrobilääkkeitä kohtaan.

MRSA:ta esiintyy sairaala- ja avohoitosyntysten infektioiden yhteydessä. Tietty MRSA-kannat ovat levinneet laajalti maapallolla. MRSA:n aiheuttamiin infektiioihin liittyy lisääntyneitä kuolleisuutta, mikä johtuu todennäköisesti tehokkaiden mikrobilääkehoitojen viivästyemisestä ja vaihtoehtoisten mikrobilääkkeiden huonommasta tehosta. MRSA-kannat ovat aiheuttaneet sairaala- ja hoitolaitosepidemioita ja niitä pidetään sairaalahygienisesti merkittävinä löydöksinä. Tiettyjä MRSA-kantoja löydetään tuotantoeläimistä kuten sioista. Myös lemmikkieläimistä on eristetty MRSA-kantoja.

### 5.2 Toteaminen

EUCAST:n menetelmäsuosituksen perusteella MRSA todetaan testaamalla *S. aureus* -kannan herkkyys kefoksitiinille joko mikrodiluutiomenetelmällä tai kiekkotestillä (taulukko 8, viitteet 33 ja 34). EUCAST:n menetelmäohje (1) ei edellytä kefoksitiinilla todetun MRSA-kannan varmistamista muilla menetelmillä. MRSA:n varmistamiseksi ja luotettavan seurantatiedon tuottamiseksi suositellaan kuitenkin geenimonistukseen perustuvien varmistustestien tekemistä kaikille kefoksitiinillä löydettyille kannoille. Geenitestien tulee tunnistaa *mecA*- ja *mecC*-geenit. Kaupallisia geenitestejä on useita. Mikäli kanta on kefoksitiiniherkkyydeltään alentunut, mutta jää geenitesteissä negatiiviseksi, se tulee lähettää THL:een varmistustestaukseen.

Taulukko 8. MRSA:n toteaminen

Menetelmä	Mikrobilääke	MIC (mg/L)	Tulkinta
Mikrodiluutio	Kefoksitiini	> 4	MRSA
Menetelmä	Mikrobilääke	Estovyöhyke (mm)	Tulkinta
Kiekkotesti	Kefoksitiini (30 µg)	< 22	MRSA

Taulukko 9. MRSA:n toteamiseen soveltuvia kontrollikantoja

Bakteerikanta	Resistenssimekanismi
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Metisilliiniherkkä
<i>S. aureus</i> NCTC 12493	<i>mecA</i>
<i>S. aureus</i> NCTC 13552	<i>mecC</i>



## 5.3 Kantajuusseulonnat

### Taustaa

MRSA-kantajuuden toteaminen on yksi osa infektioiden torjuntaa (2). MRSA-kantajuuden osoittamisessa voidaan käyttää sekä viljelyyn että geenimonistukseen perustuvia menetelmiä. Nykyään molemmista tekniikoista on paljon kokemusta ja julkaisuja. Menetelmän valintaan vaikuttavat useat tekijät, kuten menetelmän suorituskyky (spesifisyys, herkkyys), nopeus, hinta ja soveltuvuus diagnostiseen ympäristöön (esimerkiksi ns. random access- tai batch mode -laitteet, kapasiteetti, ym.). Tässä ohjeessa tarkastellaan seulonnassa käytettäviä menetelmiä vain suorituskyvyn ja nopeuden osalta.

Nykyään MRSA-viljelyt tehdään yleensä käyttäen selektiivisiä kromogeenisiä maljoja, joita on useita erilaisia (35). Viljelyt tehdään joko suoraan selektiiviselle kromogeeniselle maljalle tai ensin tehdään rikastusviljely nestemäisessä liuoksessa ja sen jälkeen viljely selektiivisille kromogeeniselle maljalle. Suora viljely selektiiviselle kromogeeniselle maljalle voi olla selvästi nopeampaa kuin rikastusviljelyä käyttävät menetelmät, jos käytetään vain lyhyttä inkubaatioaikaa (yön yli eli 16 - 24 h). Pidempi inkubaatioaika (42 - 48 h) parantaa suoran viljelyn herkkyyttä, mutta usein huonontaa spesifisyyttä (35, 36, 37, 38, 39). Useiden tutkimusten mukaan paras herkkyys saavutetaan kuitenkin, jos käytetään rikastusviljelyä ennen selektiiviselle kromogeeniselle maljalle viljelemistä (37, 38, 39, 40). Ero on erityisen selvä, jos suorassa viljelyssä käytetään vain lyhyttä inkubaatioaikaa (16 - 24 h), mutta ero kaventuu, jos inkubaatioaikaa pidennetään (42 - 48 h) (35, 37, 38, 39, 40). Rikastusviljely ei välttämättä heikennä spesifiteettiä (37, 37), mutta myös spesifiteetin heikentymistä on raportoitu (39, 40). Rikastusviljelyssä voidaan käyttää useita erilaisia kasvatusliuoksia. Osassa niistä on mukana mikrobilääkkeitä ja osassa on korotettu suolapitoisuus, mutta hyvinkin erilaisia rikastusliuoksia on menestyksekkäästi käytetty MRSA-kantajuuden toteamiseen eikä yhtä muita selvästi parempaa elatusainetta ole tiedossa. Maailmalla on raportoitu MRSA-kantoja, joita ei todeta kuin suoralla viljelyllä selektiivisille kromogeenisille maljoille (40). Siitä mikä näiden kantojen merkitys on ja miten yleisiä ne ovat, ei ole kovinkaan hyvää käsitystä.

Edellisessä MRSA:n torjuntaohjeessa kiinnitettiin huomiota MRSA-seulontaviljelytulosten tulokinnassa potilaalla käytössä olevaan mikrobilääkehoitoon, jolla saattaa olla vaikutuksia MRSA:n kasvuun. Osa MRSA-kannoista on herkkiä monille muille mikrobilääkeryhmille, jolloin edeltävä mikrobilääkehoito saattaa johtaa väärään negatiiviseen seulontaviljelytulokseen. Toisaalta osa MRSA-kannoista on resistenttejä myös muille mikrobilääkeryhmille, jolloin edeltävä mikrobilääkehoito saattaa puolestaan rikastaa MRSA:sta ja siten helpottaa MRSA:n toteamista seulontaviljelyllä. Edeltävän mikrobilääkehoidon merkitys on epäselvä.

Geenimonistusmenetelmiä voidaan käyttää MRSA-kantojen osoittamiseen suoraan potilasnäytteestä. Tähän tarkoitukseen on kehitetty monia erilaisia kaupallisia geenimonistumenetelmiä, joiden toimivuudesta ja merkityksestä MRSA:n toteamisessa on jo suhteellisen paljon tietoa. Yleisesti voidaan todeta, että geenimonistusmenetelmät ovat herkempiä kuin suora viljely selektiiviselle kromogeeniselle maljalle (riippumatta inkubaatioajasta) ja suunnilleen yhtä herkkiä kuin rikastukseen perustuvat viljelymenetelmät (36, 40, 41, 42, 43, 44). Ne antavat kuitenkin myös vääriä positiivisia tuloksia (41, 42, 45). Tämä tarkoittaa, että MRSA:n osoitukseen tarkoitettujen kaupallisten geenimonistusmenetelmien negatiivinen ennustearvo matalan MRSA-esiintyvyyden maissa, kuten Suomessa, on hyvä, mutta positiivisen tuloksen ennustearvo huono (45, 46, 47). Menetelmiä voidaan käyttää sulkemaan pois MRSA-kantajuus, mutta kaikki positiiviset löydökset on aina varmistettava viljelyllä (46). Lisäksi on muistettava, että vaikka negatiivisen tuloksen ennustearvo on hyvä, esiintyy myös MRSA-kantoja, joita kaikki nyt käytössä olevat kaupalliset menetelmät eivät totea. Näiden bakteerikantojen SCC<sub>mec</sub>-alue on muuttunut siten, etteivät geenitestit tunnista sitä (45). Tärkeää olisi tietää millainen MRSA-kantaprofiili ja erityisesti millaisia SCC<sub>mec</sub>-kasetteja MRSA-kannoilla on. Koska tätä tietoa ei ole saatavilla ja koska epidemiologinen tilanne voi muuttua, eivät suorat geenimonistusmenetelmät yksinään riitä vaan rikastukseen

perustuvia seulontaviljelyitä tarvitaan. Suurin hyöty geenimonistusmenetelmistä saadaan nopeaa diagnostiikka edellyttävissä tilanteissa. Useissa tutkimuksissa on todettu näiden tekniikoiden antavan tuloksen selvästi viljelymenetelmiä nopeammin (40, 45, 47, 48).

## Suositus

MRSA:n seulontaviljelyissä suositellaan käytettävän rikastusviljelyä, koska sen useisiin tutkimuksiin perustuen (38, 39, 40) voidaan katsoa olevan herkin menetelmä. Rikastusviljelyn jälkeen käytetään selektiivisiä kromogeenisia maljoja, jotka helpottavat MRSA:n tunnistamista. Mikäli rikastusviljelyä ei käytetä vaan näytteet viljellään suoraan selektiiviselle kromogeeniselle maljalle, on käytettävä pitkää inkubaatioaikaa (42 - 48 h) riittävän herkkyuden saavuttamiseksi. Tässä tilanteessa on lisäksi huomattava, että pitkä inkubaatioaika saattaa heikentää selektiivisten kromogeenisten maljojen spesifiteettiä. Kromogeeniseltakin maljalta poimittujen pesäkkeiden laji on syytä varmistaa (37). Lopuksi osoitetaan mec-geeni geenimonistusmenetelmällä (MRSA varmistus). Tarkemmat ohjeet siitä kuinka monta ja millaista negatiivista näytettä tarvitaan ja millä aikavälillä ne on otettu, jotta altistuneen tai kolonisoituneen potilaan katsotaan olevan negatiivinen MRSA-kantajuuden suhteen, löytyvät kansallisesta torjuntaohjeesta (2).

Nopeutta vaativissa tilanteissa suositellaan käytettävän geenimonistusmenetelmiä, koska niiden on osoitettu olevan selvästi herkempiä kuin suora viljely (yhdistettynä lyhyeen inkubaatioaikaan, 16 - 24 h) selektiiviselle kromogeeniselle maljalle (36, 40, 41, 42, 43, 44) ja koska ne voivat olla myös selvästi nopeampia kuin viljelyyn perustuvat menetelmät (40, 45, 47, 48). Negatiivisen geenimonistustuloksen perusteella voidaan alustavasti päätellä, ettei potilas ole MRSA-kantaja. Geenimonistuksen lisäksi suositellaan aina tehtäväksi seulontaviljely (rikastusviljely ja selektiivinen kromogeeninen malja tai selektiivinen kromogeeninen malja ja pitkä inkubaatioaika). Lisäksi on tärkeää huomata, että positiiviseen geenimonistustulokseen ei voi luottaa, vaan tulos on aina varmistettava kantajuusviljelyllä. Pelkän geenimonistusmenetelmän perusteella ei potilaan voi katsoa olevan MRSA-kantaja. Lopullinen päätös siitä onko potilas MRSA-kantaja, tehdään siis tässäkin tapauksessa vain viljelytulosten perusteella.

## Yhteenveto

Tässä ohjeessa suositellaan, että MRSA-kantajuuden toteaminen tehdään rikastusviljelyyn perustuvan MRSA-viljelyn avulla vaikka rikastusvaihe hidastaa tuloksen saamista. Geenimonistusmenetelmiä voidaan käyttää kantajuusviljelyiden lisäksi nopeutta vaativissa tilanteissa (taulukko 14). Lopullinen päätös siitä, onko potilas MRSA-kantaja, tehdään vain kantajuusviljelytulosten perusteella.

## 6 Glykopeptidiresistentti *Staphylococcus aureus* (GRSA)

### 6.1 Määritelmä ja kliininen merkitys

EUCAST:n mukaan *S. aureus* -kannat, joiden MIC vankomysiinille on suurempi kuin 2 mg/L, ovat vankomysiinille resistenttejä. Vankomysiinille resistentit kannat voidaan jakaa kolmeen ryhmään: *vanA*-geenin omaavat korkeasti vankomysiinille resistentit kannat (GRSA), matalan vankomysiini-MIC:n omaavat kannat, joilla ei ole *vanA*-geeniä (GISA) ja vankomysiinille heteroresistentit kannat (hGISA). hGISA-kannoilla ei ole *vanA*-geeniä ja vankomysiini-MIC on alhainen kuten GISA-kannoilla, mutta vain osa bakteeripopulaatiosta omaa alentuneen vankomysiiniherkkyyden. Käytännössä hGISA-kantojen toteaminen on erittäin hankalaa, joten huomio on GRSA- ja GISA-kantojen toteamisessa. GRSA-kannat ovat erittäin harvinaisia. GISA-kantoja esiintyy vähäisessä määrin. Molemmilla uskotaan olevan kliinistä merkitystä, joskin tutkimusnäyttöä on vähän.

### 6.2 Toteaminen

GRSA- ja GISA-kannat todetaan alentuneen vankomysiiniherkkyyden perusteella. Mikäli MIC vankomysiinille on suurempi kuin 2 mg/L, kyseessä voi olla GRSA- tai GISA-kanta. MIC voidaan määrittää mikrodiluutio-, agardiluutio tai liuskamenetelmillä. Liuskatestit antavat yleensä 0.5 - 1 MIC-laimennosta suurempia arvoja kuin mikrodiluutiomenetelmä. EUCAST:n menetelmäohjeen mukaan GRSA-kantojen seulonnassa voidaan käyttää myös kiekko testiä (1). Koska GRSA on äärimmäisen harvainen ja käytännössä on löydettävissä vain GISA-kantoja, joiden toteamiseen kiekko testit eivät sovellu, **ei kiekko testiä kannata käyttää**. Käytännössä kaikki GISA-kannat ovat toistaiseksi olleet MRSA-kantoja.

Alentunut vankomysiiniherkkyys varmistetaan mikrodiluutiomenetelmällä. Kantojen resistenssigeenit (*vanA* ja *vanB*) testataan molekulaarisilla menetelmillä. Mikäli kannan MIC vankomysiinille on suurempi kuin 2 mg/L (mikrodiluutiomenetelmä), eikä kannalla ole *van*-geeniä, se on GISA. Mikäli kannalla on *van*-geeni, se on GRSA.

Taulukko 10. GRSA- ja GISA-kantojen toteamiseen soveltuvia kontrollikantoja.

Bakteerikanta	Resistenssimekanismi
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Glykopeptidiherkkä
<i>S. aureus</i> ATCC 700698	hGISA (Mu3)
<i>S. aureus</i> ATCC 700699	GISA (Mu50)

## 7 Vankomysiiniresistentti enterokokki (VRE)

### 7.1 Määritelmä ja kliininen merkitys

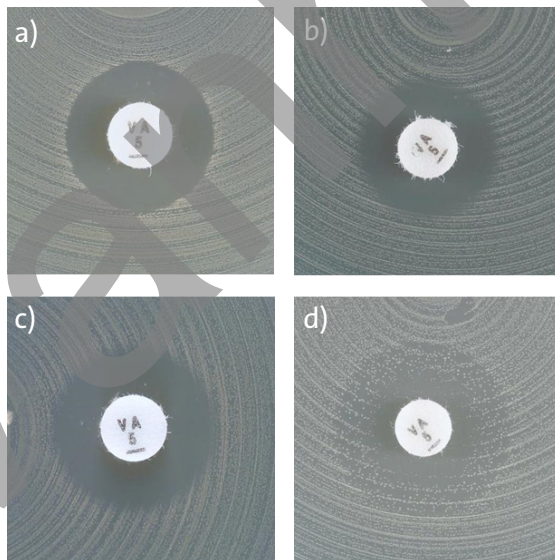
Vankomysiiniresistentti enterokokki eli VRE käsittää kaksi lajia: *Enterococcus faecalis* tai *Enterococcus faecium*, joiden vankomysiini MIC on suurempi kuin 4 mg/L, määritettynä EUCAST:n suosituksen mukaisesti (49). Enterokokit, erityisesti *E. faecium*, ovat luonnostaan hyvin resistenttejä useimmille mikrobilääkkeille. Tästä syystä vankomysiinille resistenttien kantojen aiheuttamien infektioiden hoito on vaikeaa.

Vankomysiiniresistenssiä välittää pääasiassa kaksi geeniä *vanA* ja *vanB*. Niiden lisäksi on löydetty muitakin *van*-geenejä: *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanL*, *vanM* ja *vanN*. Kuitenkin vain *vanA*- ja *vanB*-geenit ovat kliinisesti tärkeitä.

Muissakin suvun *Enterococcus*-lajeilla (*E. raffinosus*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*) voi olla *vanA*- ja *vanB*-geenejä tai muita *van*-geenejä (50). Nämä kannat ovat kuitenkin hyvin harvinaisia eikä EUCAST:n suositus katso niiden kuuluvan VRE:n määritelmään ja siten torjuttavien bakteerien joukkoon. Uusien tarkempien tunnistusmenetelmien yleistymisen takia tämä tilanne saattaa tulevaisuudessa muuttua ja näiden lajien rooli korostua. Kromosomaaliset *vanC*-geenit (*E. gallinarum*, *E. casseliflavus*) eivät ole infektioiden torjunnan kannalta tärkeitä.

### 7.2 Toteaminen

Vankomysiiniresistenssi todetaan määrittämällä vankomysiiniherkkyys mikrodiluutiomenetelmällä, liuskatestillä, kiekkotestillä tai breakpoint-maljalla. Kaikkien menetelmien kohdalla on tärkeää noudattaa EUCAST:n ohjetta inkubaatioajasta (24 h), jotta indusoituva resistenssi voidaan todeta. VRE:n vankomysiini-MIC on suurempi kuin 4 mg/L. Kiekkomenetelmää käytettäessä on tulosten lukeminen tehtävä EUCAST:n ohjeen mukaan, kuva 1. Vankomysiiniresistenssi varmistetaan molekulaarisella menetelmällä, jolla voidaan todeta *vanA*- ja *vanB*-geenit. *vanA*-kannat ovat resistenttejä sekä vankomysiinille että teikoplaniille, mutta *vanB*-kannat ovat resistenttejä vain vankomysiinille.



Kuva 1. Vankomysiiniresistenssin toteaminen kiekkoherkkyysmenetelmällä. (Kuvan lähde: viite 49).

a) Terävä estovyöhykkeen raja ja estovyöhyke  $\geq 12$  mm. Raportointi: herkkä kanta.

b-d) Ei tarkkareunaista estovyöhykkeen rajaa tai pesäkkeitä estovyöhykkeellä. Raportointi: resistentti kanta riippumatta siitä mikä estovyöhykkeen koko on. Tee aina geenivarmistus.

Taulukko 11. VRE:n toteamiseen soveltuvia kontrollikantoja.

Bakteerikanta	Resistenssimekanismi
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Vankomysiinille herkkä
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	Vankomysiinille resistentti ( <i>vanB</i> )
<i>E. faecium</i> NCTC 12202	Vankomysiinille resistentti ( <i>vanA</i> )

### 7.3 Kantajuusseulonnat

VRE-kantajien toteaminen on yksi osa infektioiden torjuntaa (2). VRE todetaan bakteeriviljelyllä. VRE-kantajuutta etsittäessä on suositeltavaa käyttää rikastusta (esimerkiksi BHI ja vankomysiini) ennen varsinaista VRE-viljelyä, koska rikastusviljely parantaa selvästi kantajuusviljelyn herkkyyttä (51, 52). Rikastuksen jälkeen viljely tehdään nykyään yleensä selektiiviselle kromogeeniselle maljalle, joita on kaupallisesti saatavilla ja joiden antaman värireaktion avulla *E. faecalis* - sekä *E. faecium* -pesäkkeet voidaan yleensä tunnistaa suhteellisen luotettavasti (51). Tästä huolimatta laji tulee varmistaa sopivalla menetelmällä sekä *van*-geenit osoittaa molekulaarisilla menetelmillä. Inkubaatioajan pidentäminen yli 24 h kromogeenisellä maljalla ei lisää herkkyyttä, mutta heikentää spesifisyyttä (51, 52). Tarkemmat ohjeet siitä kuinka monta ja millaista negatiivista näytettä tarvitaan ja millä aikavälillä ne on otettu, jotta altistuneen tai kolonisoituneen potilaan katsotaan olevan negatiivinen VRE-kantajuuden suhteen, löytyvät kansallisesta torjuntaohjeesta (2).

Geenimonistusmenetelmiä voidaan käyttää *van*-geenien osoittamiseen eristetyistä bakteerikannoista. Suora geenitesti potilasnäytteestä on myös periaatteessa mahdollinen ja kaupallisia testejä on olemassa (50). Geenimonistusmenetelmät ovat herkkiä ja nopeita kantajuusviljelyyn verrattuna. Niiden negatiivinen ennustearvo on hyvä, mutta spesifiteetti on huono. Ne ovat suhteellisen luotettavia toteamaan *vanA*-geenin, mutta *vanB*-geenin kohdalla esiintyy paljon vääriä positiivisia tuloksia (50). Syynä tähän on *vanB*-geenin esiintyminen joissakin suoliston anaerobisissa bakteerilajeissa kuten esimerkiksi *Clostridium*-lajeissa (53). Edellä mainituista syistä johtuen ja koska VRE:n esiintyvyys Suomessa on alhainen (54), VRE:n suoraa osoitusta potilasnäytteistä geenimonistusmenetelmillä ei suositella.

## 8 Moniresistentti *Pseudomonas aeruginosa* (MDR-Pseud)

### 8.1 Määritelmä ja kliininen merkitys

*P. aeruginosa* on luonnostaan resistentti useille mikrobilääkkeille, sillä on useita erilaisia resistenssimekanismia ja se voi helposti hankkia uusia resistenssigeenejä. Karbapeneemeille resistentit *P. aeruginosa* -kannat ovat melko yleisiä Euroopassa, resistenssin vaihdellessa 1 -  $\geq$  50 % välillä invasiivisissa infektioissa (55). Myös resistenssi keftatsidiimia, fluorokinoloneja ja aminoglykosideja kohtaan on suhteellisen yleistä (55). Yleensä *P. aeruginosa* aiheuttaa infektioita potilailla, joiden vastustuskyky on alentunut ja näiden potilaiden kohdalla moniresistentit *P. aeruginosa* -kannat ovat hoidollinen ongelma.

### 8.2 Toteaminen

Resistenssi todetaan EUCAST:n (49) mukaisella mikrobilääkeherkkyystestauksella. Herkkyysmäärittämisessä käytetään EUCAST:n suosittelemaa kontrollikantaa (49). Mikäli *P. aeruginosa* -kanta on resistentti karbapeneemille (meropeneemi ja/tai imipeneemi) ja keftatsidiimille sen katsotaan olevan moniresistentti ja sairaalahygieenisesti merkittävä. Varsinaista varmistustestä ei tarvita. Mikäli kyseessä on epidemiaselvitys tai mikäli potilaalla on tiedossa oleva kontakti maahan, jossa moniresistentit *P. aeruginosa* -kannat ovat endeemisiä, täytyy resistenssigeeni määrittää molekulaarisella menetelmällä. Tässä tilanteessa geenimäärittäyksillä haetaan karbapenemaasin omaavia kantoja, joiden tiedetään aiheuttaneet sairaalaepidemioita maailmalla. Geenimäärittäyksen tulee todeta ainakin VIM-, NDM-, IMP- ja KPC-karbapenemaasigeenit.

### 8.3 Kantajuusseulonnat

MDR-Pseud -kantojen mikrobilääkeresistenssi syntyy yleensä usean eri geenin vaikutuksesta, joten MDR-Pseud -kantojen toteamiseen ei ole varsinaisia geenimonistusmenetelmiä. Sen sijaan karbapenemaasigeenien toteaminen on mahdollista ja siten karbapenemaaseja tuottavien *P. aeruginosa* -kantojen toteaminen geenimonistusmenetelmien avulla onnistuu. Karbapenemaasigeenejä toteavien monistusmenetelmien toimivuudesta *P. aeruginosa* -kantojen kohdalla on kuitenkin vasta vähän kokemusta. Lisäksi on muistettava, että suurin osa kaupallisista geenimonistusmenetelmistä on suunniteltu CPE:n toteamiseen (16), ei MDR-Pseud -kantojen osoittamiseen. Tästä syystä geenimonistusmenetelmien käyttöä kolonisaation toteamisessa ei suositella. MDR-Pseudomonas -kantojen toteamiseen suositellaan viljelyä selektiivisen (kromogeenisen) maljan avulla (taulukko 14). Tarkemmat ohjeet siitä kuinka monta ja millaista negatiivista näytettä tarvitaan ja millä aikavälillä ne on otettu, jotta altistuneen tai kolonisoituneen potilaan katsotaan olevan negatiivinen MDR-Pseud-kantajuuden suhteen, löytyvät kansallisesta torjuntaohjeesta (2).



## 9 Moniresistentti *Acinetobacter baumannii* (MDR-Aci)

### 9.1 Määritelmä ja kliininen merkitys

*Acinetobacter*-lajit ovat luonnostaan resistenttejä useille mikrobilääkkeille, niillä on useita erilaisia resistenssimekanismeja ja ne voivat helposti hankkia uusia resistenssigeenejä. *Acinetobacter*-lajeja on useita ja ne voidaan karkeasti jakaa *A. baumannii* -ryhmään (*A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii* ja *A. nosocomialis*) ja siihen kuulumattomiin lajeihin. *A. baumannii* -ryhmään kuuluvat lajit ovat kliinisesti tärkeitä. Niiden tunnistaminen voi olla hankalaa ja vaatii massaspektrometriaa tai molekulaarisia menetelmiä. Karbapeneemeille resistentit *Acinetobacter*-kannat ovat melko yleisiä Euroopassa, resistenssin vaihdellessa  $< 1 - \geq 50$  % välillä invasiivisissa infektioissa (55). Myös resistenssi fluorokinoloneja ja aminoglykosideja kohtaan on suhteellisen yleistä (55). Yleensä *Acinetobacter*-kannat aiheuttavat infektioita potilailla, joiden vastustuskyky on alentunut ja näiden potilaiden kohdalla moniresistentit kannat ovat hoidollinen ongelma..

### 9.2 Toteaminen

Resistenssi todetaan EUCAST:n (49) mukaisella mikrobilääkeherkkyystestauksella. Herkkyyسمäärityksissä käytetään EUCAST:n suosittelemaa kontrollikantaa (49). Mikäli *Acinetobacter*-kanta on resistentti karbapeneemille (meropeneemi ja/tai imipeneemi) sen katsotaan olevan moniresistentti ja sairaalahygieenisesti merkittävä. Tämä siitä syystä, että karbapeneemeille resistentit kannat ovat yleensä hankkineet myös muita resistenssitekijöitä ja tehokkaita mikrobilääkkeitä on vähän. Varsinaista varmistustestiä ei tarvita. Mikäli kyseessä on epidemiaselvitys tai mikäli potilaalla on tiedossa oleva kontakti maahan, jossa moniresistentit *Acinetobacter*-kannat ovat endeemisiä, täytyy resistenssigeeni määrittää molekulaarisella menetelmällä. Tässä tilanteessa geenimäärityksillä haetaan karbapenemaasin omaavia kantoja, joiden tiedetään aiheuttaneet sairaalaepidemioita maailmalla. Geenimäärityksen tulee todeta ainakin VIM-, NDM- ja KPC-karbapenemaasigeenit sekä *Acinetobacter*-kannoille hyvin tyypilliset OXA-geenit: OXA-51, OXA-58, OXA-23 ja OXA24/40.

### 9.3 Kantajuusseulonnat

Karbapenemaaseja tuottavien *Acinetobacter*-kantojen toteaminen geenimonistusmenetelmien avulla on mahdollista, mutta monistusmenetelmien toimivuudesta *Acinetobacter*-kantojen kohdalla on vasta vähän kokemusta. Aivan kuten MDR-Pseud -kantojen kohdalla, on lisäksi muistettava, että suurin osa kaupallisista geenimonistusmenetelmistä on suunniteltu CPE:n toteamiseen (16). Tästä syystä geenimonistusmenetelmien käyttöä kolonisaation toteamisessa ei suositella. MDR-Aci todetaan selektiivisellä bakteeriviljelyllä (kromogeenisen) maljan avulla. Tarkemmat ohjeet siitä kuinka monta ja millaista negatiivista näytettä tarvitaan ja millä aikavälillä ne on otettu, jotta altistuneen tai kolonisoituneen potilaan katsotaan olevan negatiivinen MDR-Aci-kantajisuuden suhteen, löytyvät kansallisesta torjuntaohjeesta (2).

## 10 Lyhenteet

Taulukko 12. Lyhenteet

Lyhenne	Selitys	Huomautus
MDR	multidrug-resistant (resistentti $\geq 3$ eri mikrobi-lääkeryhmälle)	Tarkempi määrittely viitteessä 57.
XDR	extensively drug-resistant (herkkä ainoastaan 1 tai 2 eri mikrobilääkkeelle)	Tarkempi määrittely viitteessä 57.
PDR	pandrug-resistant (resistentti kaikille mikrobi-lääkkeille)	Tarkempi määrittely viitteessä 57.
CPE	karbapenemaasia tuottava enterobakteeri	<i>Enterobacteriaceae</i> *
GRSA	glykopeptidiresistentti <i>Staphylococcus aureus</i>	
GISA	glykopeptidiherkkyydeltään alentunut <i>Staphylococcus aureus</i>	
ESBL	laajakirjainen $\beta$ -laktamaasi	
MRSA	metisilliiniresistentti <i>Staphylococcus aureus</i>	
MDR-Pseud tai	moniresistentti <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
MDR-P.aeruginosa		
MDR-Aci tai	moniresistentti <i>Acinetobacter</i>	<i>A. baumannii</i> ryhmä**
MDR-Acinetobacter		
VRE	vankomysiiniresistentti enterokokki	<i>Enterococcus faecium</i> tai <i>Enterococcus faecalis</i> ***
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase	
VIM	Verona integronencoded metallo- $\beta$ -lactamase	
IMP	imipenemaasi (active on imipenem)	
OXA	okasillinaasi (oxacillinhydrolyzing)	
CTX-M	cefotaximase (active on cefotaxime, first isolated in Munich)	
TEM	Temoneira	
SHV	sulphydryl variable	
EUCAST	The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing	
<p>*Käsittelee periaatteessa kaikki <i>Enterobacteriaceae</i>-heimon lajit, mutta erityisesti <i>Klebsiella</i> sp., <i>Escherichia coli</i> ja <i>Enterobacter cloacae</i></p> <p>**<i>A. calcoaceticus</i>, <i>A. baumannii</i>, <i>A. pittii</i> ja <i>A. nosocomialis</i></p> <p>***EUCAST:n suosituksen mukaan vain nämä lajit (1)</p>		



# 11 Yhteenvetotaulukot

Taulukko 13. Moniresistentin bakteerikannan osoittaminen

Toimenpide	CPE	ESBL	AmpC*	MRSA	GRSA	GISA	VRE	MDR-Pseud	MDR-Aci
Herkkysmäärittäykseen perustuva seulonta	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Resistenssimekanismin molekulaarinen varmistus	x			x	x	x**	x		
Resistenssimekanismin fenotyyppinen varmistus		x	x						
Kanta lähetetään referenssilaboratorioon	x			x	x	x	x		
Kanta lähetetään referenssilaboratorioon poikkeustapauksissa		x***	x***					x****	x****

\*Plasmidivälitteinen *ampC*-geeni, vain *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica*

\*\*Osoitetaan ettei kannalla ole vangeeneja.

\*\*\*epidemiaselvitykset

\*\*\*\*epidemiaselvitykset ja/tai potilaalla kontakti ulkomaille

Taulukko 14. Kantajuusseulonnat

Bakteerikanta	Kantajuuden osoittaminen			
	Rikastusviljely ja sen jälkeen viljely kromogeeniselle maljalle (16h-48h inkubaatio)	Suora viljely kromogeeniselle maljalle (16h-48h inkubaatio)	Suora viljely kromogeeniselle maljalle (42h-48h inkubaatio)	Suora geeni monistus
CPE	ei	kyllä	ei	nopeutta vaativissa tilanteissa*
ESBL	ei	kyllä	ei	ei**
MRSA	kyllä	ei	kyllä***	nopeutta vaativissa tilanteissa*
VRE	kyllä	ei	ei	ei**
MDR-Pseud	ei	kyllä****	ei	ei**
MDR-Aci	ei	kyllä****	ei	ei**

\*Vaatii lisäksi kantajuusviljelyn, lopullinen päätös kantajuudesta tehdään vain kantajuusviljelyn perusteella.

\*\*Suorien geenimonistusmenetelmien toimivuudesta ja oikeasta käyttökohteesta ei ole riittävästi tietoa.

\*\*\*Spesifiteetti heikkenee, joten pitkä inkubaatio vaatii aina lajimäärityksen.

\*\*\*\*Viljely voidaan tehdä kromogeeniselle maljalle, mutta spesifistä värireaktiota ei ole.

## 12 Lähteet

1. Giske, Christian, MartinezMartinez, Luis, Canton, Rafael, et. al. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, Version 1.0, 2013 [http://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms/](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/)
2. Elina Kolho ja Outi Lyytikäinen. Ohje moniresistenttien mikrobien tartunnantorjunnasta 2014. <http://urn.fi/URN:ISBN:9789523022607>
3. Falagas ME, Lourida P, Poulidakos P, Rafailidis PI, Tansarli GS. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: systematic evaluation of the available evidence. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58:65463.
4. Woodford N, Dallow JW, Hill RL, Palepou MF, Pike R, Ward ME, Warner M, Livermore DM. Ertapenem resistance among *Klebsiella* and *Enterobacter* submitted in the UK to a reference laboratory. *Int J Antimicrob Agents.* 2007 Apr;29(4):4569.
5. Samra Z, Bahar J, MadarShapiro L, Aziz N, Israel S, Bishara J. Evaluation of CHROMagar KPC for Rapid Detection of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology.* 2008;46(9):31103111.
6. Adler A, NavonVenezia S, MoranGilad J, Marcos E, Schwartz D, Carmeli Y. Laboratory and clinical evaluation of screening agar plates for detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from surveillance rectal swabs. *J Clin Microbiol.* 2011 Jun;49(6):223942.
7. Panagea T, Galani I, Souli M, Adamou P, Antoniadou A, Giamarellou H. Evaluation of CHROMagar™ KPC for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in rectal surveillance cultures. *Int J Antimicrob Agents.* 2011 Feb;37(2):1248.
8. PapadimitriouOlivgeris M, Bartzavali C, Christofidou M, Bereksi N, Hey J, Zambardi G, Spiliopoulou I. Performance of chromID® CARBA medium for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae detection during rectal screening. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014 Jan;33(1):3540.
9. Vriani G, Daniil I, Voulgari E, Ranellou K, Koumaki V, Ghirardi S, Kimouli M, Zambardi G, Tsakris A. Comparative evaluation of a prototype chromogenic medium (ChromID CARBA) for detecting carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in surveillance rectal swabs. *J Clin Microbiol.* 2012 Jun;50(6):18416.
10. Wilkinson KM, Winstanley TG, Lanyon C, Cummings SP, Raza MW, Perry JD. Comparison of four chromogenic culture media for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2012 Sep;50(9):31024.
11. Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Comparison of the SUPERCARBA, CHROMagar KPC, and Brilliance CRE screening media for detection of Enterobacteriaceae with reduced susceptibility to carbapenems. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013 Feb;75(2):2147.
12. Laboratory Protocol for Detection of Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-Producing, *Klebsiella* spp. and *E. coli* from Rectal Swabs. <http://www.cdc.gov/>
13. Lolans K, Calvert K, Won S, Clark J, Hayden MK. Direct ertapenem disk screening method for identification of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in surveillance swab specimens. *J Clin Microbiol.* 2010 Mar;48(3):83641.
14. Schechner V, StrausRobinson K, Schwartz D, Pfeffer I, Tarabeia J, Moskovich R, Chmelnitsky I, Schwaber MJ, Carmeli Y, NavonVenezia S. Evaluation of PCR-based testing for surveillance of KPC-producing carbapenem-resistant members of the Enterobacteriaceae family. *J Clin Microbiol.* 2009; 47:32615.
15. Findlay J, Hopkins KL, Meunier D, Woodford N. Evaluation of three commercial assays for rapid detection of genes encoding clinically relevant carbapenemases in cultured bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2015 May;70(5):133842.
16. Tenover FC, Canton R, Kop J, Chan R, Ryan J, Weir F, RuizGarbajosa P, LaBombardi V, Persing DH. Detection of colonization by carbapenemase-producing Gram-negative bacilli in patients by use of the Xpert MDRO assay. *J Clin Microbiol.* 2013 Nov;51(11):37807. doi: 10.1128/JCM.0109213.

17. Kaase M, Szabados F, Wassill L, Gatermann SG. Detection of Carbapenemases in Enterobacteriaceae by a Commercial Multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2012;50(9):31153118.
18. Vasoo S, Cunningham SA, Kohner PC, Mandrekar JN, Lolans K, Hayden MK, Patel R. Rapid and direct real-time detection of blaKPC and blaNDM from surveillance samples. *J Clin Microbiol*. 2013 Nov;51(11):360915.
19. Lowman W, Marais M, Ahmed K, Marcus L. Routine active surveillance for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs: diagnostic implications of multiplex polymerase chain reaction. *J Hosp Infect*. 2014 Oct;88(2):6671.
20. Singh K, Mangold KA, Wyant K, Schora DM, Voss B, Kaul KL, Hayden MK, Chundi V, Peterson LR. Rectal screening for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases: comparison of real-time PCR and culture using two selective screening agar plates. *J Clin Microbiol*. 2012 Aug;50(8):2596600.
21. Hindiyyeh M, Smollen G, Grossman Z, Ram D, Davidson Y, Mileguir F, Vax M, Ben David D, Tal I, Rahav G, Shamiss A, Mendelson E, Keller N. Rapid detection of blaKPC carbapenemase genes by real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 2008 Sep;46(9):287983.
22. Ducomble T, Fauchoux S, Helbig U, Kaisers UX, König B, Knaust A, Lübbert C, Möller I, Rodloff AC, Schweickert B, Eckmanns T. Large hospital outbreak of KPC2-producing *Klebsiella pneumoniae*: investigating mortality and the impact of screening for KPC2 with polymerase chain reaction. *J Hosp Infect*. 2015 Mar;89(3):17985.
23. McEwan AS, Derome A, Meunier D, Burns PJ, Woodford N, Dodgson AR. Evaluation of the NucliSENS EasyQ KPC Assay for Detection of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;51(6):19481950. doi:10.1128/JCM.0005713.
24. Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60:91320.
25. Harris AD, Kotetishvili M, Shurland S. How important is patient-to-patient transmission in extended-spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* acquisition. *Am J Infect Control* 2007;35:97–101.
26. Kola A, Holst M, Chaberny IF, Ziesing S, Suerbaum S, Gastmeier P. Surveillance of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria and routine use of contact isolation: experience from a three-year period. *J Hosp Infect* 2007;66:46–51.
27. Potz NA, Colman M, Warner M, Reynolds R, Livermore DM. False-positive extended-spectrum beta-lactamase tests for *Klebsiella oxytoca* strains hyperproducing K1 beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:545547.
28. Kaye KS, Cosgrove S, Harris A, Eliopoulos GM, Carmeli Y. Risk factors for emergence of resistance to broad-spectrum cephalosporins among *Enterobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:26282630.
29. Giske CG, Sundsfjord AS, Kahlmeter G, Woodford N, Nordmann P, Paterson DL, et al. Redefining extended-spectrum beta-lactamases: balancing science and clinical need. *J Antimicrob Chemother* 2009;63:14.
30. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:111.
31. Arena F, Giani T, Becucci E, Conte V, Zanelli G, D'Andrea MM, Buonocore G, Bagnoli F, Zanchi A, Montagnani F, Rossolini GM. Large oligoclonal outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* ST14 and ST26 producing the FOX7 AmpC- $\beta$ -lactamase in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol*. 2013; 51:406772.
32. Gunell M, Aulu L, Jalava J, Lukinmaa Åberg S, Osterblad M, Ollgren J, Huovinen P, Siitonen A, Hakanen AJ. Cefotaxime-resistant *Salmonella enterica* in travelers returning from Thailand to Finland. *Emerg Infect Dis*. 2014; 20:12147.
33. Skov R, Smyth R, Clausen M, Larsen AR, Frimodt-Møller N, Olsson Liljequist B, Kahlmeter G. Evaluation of a cefoxitin 30 microg disc on IsoSensitest agar for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52:2047.

34. Velasco D, del Mar Tomas M, Cartelle M, Beceiro A, Perez A, Molina F, Moure R, Villanueva R, Bou G. Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*. 2005;55:37982.
35. MalhotraKumar S, Abrahantes JC, Sabiiti W, et al. Evaluation of Chromogenic Media for Detection of MethicillinResistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010;48(4):10401046.
36. Luteijn JM, Hubben GA, Pechlivanoglou P, Bonten MJ, Postma MJ. Diagnostic accuracy of culturebased and PCRbased detection tests for methicillinresistant *Staphylococcus aureus*: a metaanalysis. *Clin Microbiol Infect*. 2011 Feb;17(2):14654.
37. Nahimana I, Francioli P, Blanc DS. Evaluation of three chromogenic media (MRSAID, MRSASelect and CHROMagar MRSA) and ORSAB for surveillance cultures of methicillinresistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect*. 2006 Dec;12(12):116874.
38. Nonhoff C, Denis O, Brenner A, Buidin P, Legros N, Thiroux C, Dramaix M, Struelens MJ. Comparison of three chromogenic media and enrichment broth media for the detection of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* from mucocutaneous screening specimens : Comparison of MRSA chromogenic media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009 Apr;28(4):3639.
39. Veenemans J, Verhulst C, Punselie R, van Keulen PH, Kluytmans JA. Evaluation of brilliance MRSA 2 agar for detection of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* in clinical samples. *J Clin Microbiol*. 2013 Mar;51(3):10267.
40. Paule SM, Mehta M, Hacek DM, Gonzalzles TM, Robicsek A, Peterson LR. Chromogenic media vs realtime PCR for nasal surveillance of methicillinresistant *Staphylococcus aureus*: impact on detection of MRSApositive persons. *Am J Clin Pathol*. 2009 Apr;131(4):5329.
41. Arcenas RC, Spadoni S, Mohammad A, Kiechle FL, Walker K, Fader RC, PerdreauRemington F, Osiecki J, Liesenfeld O, Hendrickson S, Rao A. Multicenter evaluation of the LightCycler MRSA advanced test, the Xpert MRSA Assay, and MRSASelect directly plated culture with simulated workflow comparison for the detection of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* in nasal swabs. *J Mol Diagn*. 2012 Jul;14(4):36775.
42. MalhotraKumar S, Van Heirstraeten L, Lee A, et al. Evaluation of Molecular Assays for Rapid Detection of MethicillinResistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010;48(12):45984601.
43. Aydiner A, Lüsebrink J, Schildgen V, Winterfeld I, Knüver O, Schwarz K, Messler S, Schildgen O, Mattner F. Comparison of two commercial PCR methods for methicillinresistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) screening in a tertiary care hospital. *PLoS One*. 2012;7(9)
44. Wolk DM, Marx JL, Dominguez L, Driscoll D, Schiffman RB. Comparison of MRSASelect Agar, CHROMagar MethicillinResistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Medium, and Xpert MRSA PCR for detection of MRSA in Nares: diagnostic accuracy for surveillance samples with various bacterial densities. *J Clin Microbiol*. 2009 Dec;47(12):39336.
45. Roisin S, Laurent C, Nonhoff C, Deplano A, Hallin M, Byl B, Struelens MJ, Denis O. Positive predictive value of the Xpert MRSA assay diagnostic for universal patient screening at hospital admission: influence of the local ecology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012 May;31(5):87380.
46. Herdman MT, Wyncoll D, Halligan E, Cliff PR, French G, Edgeworth JD. Clinical application of realtime PCR to screening critically ill and emergencycare surgical patients for methicillinresistant *Staphylococcus aureus*: a quantitative analytical study. *J Clin Microbiol*. 2009 Dec;47(12):41028
47. Hombach M, Pfyffer GE, Roos M, Lucke K. Detection of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in specimens from various body sites: performance characteristics of the BD GeneOhm MRSA assay, the Xpert MRSA assay, and brothenriched culture in an area with a low prevalence of MRSA infections. *J Clin Microbiol*. 2010 Nov;48(11):38827.
48. Tacconelli E, De Angelis G, de Waure C, Cataldo MA, La Torre G, Cauda R. Rapid screening tests for meticillinresistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission: systematic review and metaanalysis. *Lancet Infect Dis*. 2009 Sep;9(9):54654.

49. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016. <http://www.eucast.org>.
50. Stamper PD, Cai M, Lema C, Eskey K, Carroll KC. Comparison of the BD GeneOhm VanR assay to culture for identification of vancomycinresistant enterococci in rectal and stool specimens. *J Clin Microbiol*. 2007 Oct;45(10):33605.
51. Kuch A, Stefaniuk E, Ozorowski T, Hryniewicz W. New selective and differential chromogenic agar medium, chromID VRE, for screening vancomycinresistant *Enterococcus* species. *J Microbiol Methods*. 2009 Apr;77(1):1246.
52. Delmas J, Robin F, Schweitzer C, Lesens O, Bonnet R. Evaluation of a new chromogenic medium, ChromID VRE, for detection of vancomycinresistant *Enterococci* in stool samples and rectal swabs. *J Clin Microbiol*. 2007 Aug;45(8):27313.
53. Zhou X, Arends JP, Kampinga GA, Ahmad HM, Dijkhuizen B, van Barneveld P, Rossen JW, Friedrich AW. Evaluation of the Xpert vanA/vanB assay using enriched inoculated broths for direct detection of vanB vancomycinresistant *Enterococci*. *J Clin Microbiol*. 2014 Dec;52(12):42937.
54. <https://www.thl.fi/fi/web/infektiotaudit/seurantajaepidemiati/tartuntatautirekisteri>
55. EARSNet 2013 <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARSNet/Pages/index.aspx>
56. Van Heirstraeten L, Cortiñas Abrahantes J, Lammens C, Lee A, Harbarth S, Molenberghs G, Aerts M, Goossens H, MalhotraKumar S; MOSAR WP2 Study Group. Impact of a short period of preenrichment on detection and bacterial loads of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* from screening specimens. *J Clin Microbiol*. 2009 Oct;47(10):33268
57. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, OlssonLiljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrugresistant, extensively drugresistant and pandrugresistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Mar;18(3):26881.